

repository.ub.ac.id

**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT DEKOK DAUN
MIMBA (*Azadirachta indica* A. juss) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus aureus* SECARA IN
VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

Indra Mahmud Saleh
NIM. 135050101111219



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KEMAMPUAN DAYA HAMBAT DEKOK
DAUN MIMBA (*Azadirachta indica* A. juss)
TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus
aureus* SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:

Indra Mahmud Saleh
NIM. 135050101111219

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana Peternakan pada Fakultas
Peternakan Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Wek V, Kecamatan Barumon, Kabupaten Padang Lawas, Sumatera Utara pada tanggal 5 Desember 1994 sebagai putra pertama dari empat bersaudara dari pasangan Drs Marwan saleh Hasibuan dan Masna Murni Hrp S.Pd.i. Pendidikan formal yang pernah di tempuh adalah SDN 2 Barumon lulus pada tahun 2007, MTs. S. Darul Mursyid lulus pada tahun 2010, SMAN 1 Padang Lawas lulus pada tahun 2013, Selanjutnya pada tahun 2013 penulis di terima di program studi peternakan, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya melalui program Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis pernah melaksanakan kerja lapang (PKL) di PT. Panca Patriot Prima unit *Breeding Farm* Hisur Batu dengan konsentrasi laporan berjudul “Manajemen Pemeliharaan Ayam *Parent Stock Broiler* Fase *Grower* pada kandang *Open House* di PT. Panca Patriot Prima Unit *Breeding Farm* Hisur Batu”.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat, hidayah, dan inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan penelitian skripsi dengan judul “Kemampuan Daya Hambat Dekok Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*”, sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

Penulisan skripsi ini tidak dapat dilaksanakan dan diselesaikan tanpa adanya bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan rasa terima kasih kepada :

1. Keluarga penulis khususnya Bapak Drs. Marwan Saleh Hasibuan, Ibu Masna Murni Hrp S.Pd.i yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan motivasi dalam semua hal selama menempuh pendidikan.
2. Dr. Ir. PuguH Suryowardojo, MP. dan Ir. Endang Setyowati, MS selaku dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan arahan, bimbingan, dan saran selama proses penyelesaian skripsi ini.
3. Dr. Ir. Sucik Maylinda, MS. Dan Dr. Ir. Bambang Ali Nugroho, MS. DAA selaku dosen penguji atas kritik dan saran selama ujian sarjana
4. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS. Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.
5. Dr. Ir. Sri Minarti, MP dan Dr. Ir. Imam Thohari, MP. selaku kepala jurusan dan sekretaris jurusan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah memberikan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

6. Dr. Agus Susilo, S.Pt. MP. Ketua Program Studi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah menyetujui penulisan untuk melakukan penelitian.
7. Ir. Nur Cholis, M.Si. Selaku Koordinator Bidang Minat Produksi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah membina kelancaran proses studi
8. Seluruh dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah mengajar dan mendidik penulis selama masa pendidikan.
9. Rafidah Hasan Srg dan Teman-teman Fakultas Peternakan angkatan 2013 yang selalu memberikan dukungan, doa, dan bantuan dalam penulisan skripsi.

Harapan penulis, semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang memerlukan serta sebagai sarana informasi untuk mahasiswa.

Malang, Agustus 2018

Penulis

The Inhibition Ability Of Antibacterial Agents of Neem Leaves (*Azadirachta indica* A. Juss) by Decoction Method to The of *Staphylococcus aureus* In Vitro
Indra Mahmud Saleh¹⁾, Puguh Surjowardojo²⁾, and Endang Setyowati²⁾

- 1) Student of Faculty of Animal Science, Brawijaya University
- 2) Lecturer on Faculty of Animal Science, Brawijaya University

ABSTRACT

This research was carried out at laboratory of dairy production Faculty of Animal Science and laboratory of microbiology Medical Faculty Brawijaya University. The objective of this research was to know the inhibition ability of neem leave extract by boiling method to the growth of *Staphylococcus aureus*. The treatments were a concentration of neem leaf extract 23%, 25%, 28%, 31% and 33% well as the chemical solution iodips as a preventive treatment of mastitis disease. This research used experimental method with completely randomized design, the data analysis used anova (Analysis of Variance) if there were significant effect would continued with DMRT (Duncan's Multiple Range Test). The inhibition ability of neem leaves extract by boiling method was hight by the higher concentration. The result showed that the neem leaves boiling could inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* with weak ability. The best treatment was P5 (33%) that produced inhibition zone 4.83 mm.

Keywords : *Staphylococcus aureus*, Inhibition, *Azadirachta indica* A. Juss



KEMAMPUAN DAYA HAMBAT DEKOK DAUN MIMBA (*azadiracta indica A.juss*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus* *aureus* SECARA *IN VITRO*

Indra Mahmud Saleh¹⁾, Puguh surjowardojo²⁾ dan Endang Setyowati²⁾

- 1) Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
- 2) Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

RINGKASAN

Radang ambing yang dikenal sebagai mastitis merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah karena menyebabkan kerugian cukup besar sehubungan dengan penurunan produksi, kualitas, penolakan susu, biaya perawatan dan pengobatan yang cukup tinggi serta pengafkiran ternak lebih awal. Mastitis di bedakan menjadi dua yaitu mastitis subklinis dan mastitis klinis. Bakteri yang paling banyak menyebabkan mastitis subklinis, didominasi antara lain oleh *Streptococcus agalactiae*, *S.aureus* dan *S. epidermidis* mendominasi sebesar 91,5%, sedangkan *S.dysgalactiae*, *S.uberis*, *Coliform* dan lain-lain sebesar 8,5%. Pencegahan mastitis umumnya melakukan *teat dipping* menggunakan antiseptik yang berasal dari larutan kimia berupa *iodips*. Penggunaan larutan *iodips* pada pencegahan mastitis membawa dampak residu pada produk yang dihasilkan peternak. sehingga perlu adanya alternatif lain. Daun mimba mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, tannin, saponin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri Penyebab mastitis, diantaranya *Staphylococcus aureus*.

Tujuan penelitian ini yaitu menguji zat antibakteri yang terdapat di daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) dengan perebusan suhu 100⁰C selama \pm 15 menit dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan uji daya hambat metode kertas cakram. Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 20 November sampai dengan 21 Oktober 2017. Pembuatan dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A. juss) di Laboratorium Ternak Perah Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang, pembiakan bakteri *staphylococcus aureus* dan uji daya hambat bakteri dilaksanakan di laboratotorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Metode penelitian ini adalah percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan 4 ulangan. Perlakuan yaitu *iodips* (P0), dekok daun mimba 23% (P1), 25% (P2), 28% (P3), 31% (P4), 33% (P5). penelitian ini menggunakan metode cakram kertas untuk mengetahui zona hambat dengan mengamati dan mengukur zona terang yang berada dibagian luar. Data yang di peroleh di analisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan uji DMRT apabila terdapat perbedaan nyata.

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa adanya perbedaan sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. Rata-rata nilai daya hambat konsentrasi yang diberikan terhadap dekok daun mimba pada P1 dengan konsentrasi 23% memiliki rata-rata daya hambat sebesar 2,87 mm, P2 (3,075), P3 (3,295), P4 (3,7675), P5 (4,8275) dan P0 *iodips* (7,59). Rata-rata nilai daya hambat konsentrasi yang diberikan pada P5 (33%) merupakan nilai daya hambat paling besar tetapi belum bisa menyamai daya hambat yang dihasilkan oleh P0 (*iodips*)

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dekok daun mimba maka zona hambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* semakin besar dan dekok daun mimba pada konsentrasi 33% memiliki zona hambat paling tinggi (4,8275) mm. tetapi masih rendah dibandingkan *iodip*.

DAFTAR ISI

ISI	HALAMAN
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRACK.....	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.5. Kerangka Pikir	4
1.6. Hipotesis.....	7
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 9
2.1 Mastitis.....	9
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.3 Tanaman Mimba	13
2.4 Kandungan Kimia Daun Mimba	14
2.5 Zat Antibakteri Pada Daun Mimba	15
2.5.1 Terpenoid	15
2.5.2 Flavonoid	16
2.5.3 Alkoloid	16
2.5.4 Saponin	16
2.5.5 Tanin	17
2.5.6 Asam Lemak	17
2.6 Media NA (<i>Nutrient Agar</i>).....	17
2.7 Media NB (<i>Nutrient Bort</i>).....	18
2.8 Metode Pengujian Antibakteri	18

BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN..23

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	23
3.2 Materi Penelitian	23
3.3 Alat dan Bahan	23
3.4 Metode Penelitian	25
3.4.2 Rancangan Penelitian	25
3.4.2 Tahapan Penelitian	25
3.4.2.1 Tahap Pra Penelitian	25
3.4.2.2 Prosedur Pembuatan dekok Daun Mimba	26
3.4.2.3 Prosedur Pembuatan Media NA (Nutrient Agar)	26
3.4.2.4 Prosedur Pembuatan Media NB (Nutrient Borth).....	27
3.4.2.5 Pemiakan Bakteri	27
3.4.2.6 Uji Zat Anti Bakteri	27
3.6 Variabel Penelitian.....	29
3.6 Analisis Data	29
3.7 Batasan Istilah	29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 31

4.1 Analisi Hasil dan Pembahasan	31
4.2 Mekanisme Zat Antibakteri Dekok Daun Mimba (<i>Azadirachtaindica A.juss</i>) Terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	35

BAB V PENUTUP..... 39

5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran.....	39

DAFTAR PUSTAKA 41

LAMPIRAN..... 53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pemeriksaan Kandungan Ekstrak Daun Mimba.....	15
2. Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	21
3. Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat.....	28
4. Hasil rata-rata pengukuran daya hambat bakteri <i>Stahpylococcus aureus</i>	32



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan Kerangka Pikir	6
2. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i> yang diamati melalui mikroskop	11
3. Daun Mimba.....	14
4. Zona daya hambat dekok daun mimba (<i>Azadirachtaindica A.juss</i>) terhadap perumbuhan bakteri <i>Stahpylococcus aureus</i>	31
5. Rata-rata diameter zona hambat dekok daun Mimba(<i>Azadirachtaindica A.juss</i>) dan larutan <i>iodips</i> terhadap perumbuhan bakteri <i>Stahpylococcus Aureus</i>	33

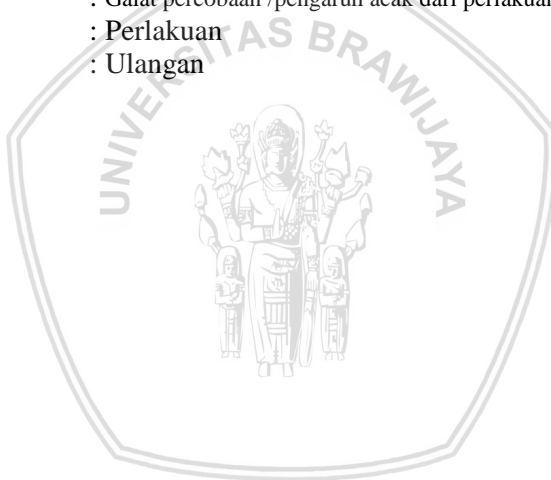
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Peneliiian.....	53
2. Analisis statistik	57
3. Dokumentasi penelitian.....	59
4. Cara menghitung diameter Zona hambat	65



DAFTAR SINGKATAN

N B	: Nutrient Borth
NA	: Nutrien Agar
<i>S. aureus</i>	: Bakteri <i>Stahpylococcus aureus</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
DMRT	: Duncan Multiple Range Test
ANOVA	: Analisis Varians (Ragam)
Y_{ij}	: Nilai pengamatan pada perlakuan ke-i ulangan ke-j
μ	: Nilai tengah umum (Rataan Populasi)
τ_i	: Pengaruh perlakuan ke-i
ϵ_{ij}	: Galat percobaan /pengaruh acak dari perlakuan ke-i
i	: Perlakuan
j	: Ulangan



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi perah merupakan salah satu penghasil susu yang cukup tinggi melebihi kebutuhan anaknya. konsumsi susu dari tahun ke tahun terus meningkat, peningkatan ini sejalan dengan makin meningkatnya tingkat ekonomi dan kesadaran akan kebutuhan makanan bergizi. peningkatan permintaan belum diikuti dengan peningkatan produksi karena banyak kendala dihadapi peternak. Rendahnya produksi susu di Indonesia disebabkan oleh beberapa faktor salah satunya adalah mastiti. Mastitis adalah peradangan jaringan internal ambing (Imas dan Martindah, 2015)

Radang ambing merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah. Hal ini ditambahkan (Abrar, Wibawan, Priosoeryanto, Mirnawati dan Pasaribu, 2012). Radang ambing yang dikenal sebagai mastitis masih tetap merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah karena menyebabkan kerugian yang cukup besar sehubungan dengan penurunan produksi, kualitas, dan penyingkiran susu, biaya perawatan dan pengobatan yang cukup tinggi, serta pengafkiran ternak lebih awal. Mastitis dibedakan menjadi dua yaitu mastitis subklinis dan mastitis klinis. Insidensi mastitis pada sapi perah di Indonesia sangat tinggi (85%) dan sebagian besar merupakan infeksi yang bersifat subklinis. ditambahkan oleh Poeloengan (2009) Mastitis subklinis adalah bentuk peradangan pada ambing yang tidak menampilkan tanda klinis. bentuk mastitis ini hanya dapat dideteksi melalui pemeriksaan laboratorium atau uji-uji khusus seperti *California Mastitis Test* (CMT). Peradangan ini dapat mempengaruhi komposisi susu antara lain dapat menyebabkan bertambahnya protein dalam darah di dalam jaringan ambing, serta menyebabkan penurunan produksi susu. Umumnya radang ambing disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus agalactiae* (Surjowardodjo, 2012).

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri yang penyebab mastitis yang banyak membawa kerugian dalam penurunan produksi susu, penurunan kualitas susu. Menurut (Aprilia, Sarwiyono dan Surjowardojo, 2015) *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8- 1,0 μm . Bakteri yang paling banyak menyebabkan mastitis subklinis didominasi oleh *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* mendominasi sebesar 91,5%, sedangkan *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Coliform* dan lain-lain sebesar 8,5% (Supar dan Ariyanti, 2008)

Pencegahan mastitis yang biasa dilakukan oleh peternak sapi perah yaitu dengan melakukan *teat dipping* menggunakan antiseptik yang berasal dari larutan bersifat kimia berupa *iodips*. Penggunaan larutan kima yaitu *iodips* pada pengobatan mastitis membawa dampak residu pada produk yang dihasilkan peternak, oleh karena itu dibutuhkan alternatif pencegahan secara alami yang memanfaatkan antibakteri alami dari tumbuhan salah satunya *Azadirachta indica* A. Juss atau lebih di kenal dengan daun mimba adalah tanaman yang banyak yang mengandung banyak khasiat dan sering digunakan sebagai obat tradisional karena mampu mengobati berbagai macam penyakit. ditambahkan oleh Ayini, Siti dan Titis (2014) Zat aktif yang terkandung dalam tanaman mimba diantaranya adalah *azadirachtin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin*, dan *nimbidin*. Senyawa *azadirachtin* merupakan kandungan utama daun mimba yang berfungsi sebagai *repellent* (sebagai penghalau), *antifeedant* (penurun nafsu makan) dan penghambat pertumbuhan mikroba. Daun mimba juga mengandung senyawa nimbin dan nimbidin yang merupakan senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat antibakteri dapat merusak dinding sel bakteri dengan cara

mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dindingsel tidak terbentuk secara utuh, pembelahan sel terhambat dan menyebabkan kematian sel tersebut (Hillary, Endang dan Laella, 2016).

Berdasarkan uraian diatas penggunaan dekok daun mimba (*Azadirachta indica A.juss*) diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* yang merupakan salah satu bakteri penyebab mastitis. Dengan cara pengujian zat antibakteri dekok daun mimba terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dapat menekan tingkat kejadian mastitis pada peternakan sapi perah sehingga produksi susu meningkat.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah zat antibakteri yang terdapat di dekok daun mimba dengan konsentrasi 23%, 25%, 28%, 31%, 33% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aures*?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kemampuan daya hambat dekok daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai bahan informasi tentang manfaat dekok daun (*Azadirachta indica A. Juss*) mimba sebagai anti bakteri
2. Sebagai pengkayaan manfaat tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai larutan *teat dipping* pada sapi perah.

1.5 Kerangka Pikir

Mastitis adalah suatu peradangan pada kelenjar internal ambing (Lutviandhitarani, Harjanti dan Wahyono, 2015). Radang ambing yang dikenal sebagai mastitis masih tetap merupakan masalah utama dalam peternakan sapi perah karena menyebabkan kerugian yang cukup besar sehubungan dengan penurunan produksi, kualitas, dan penyingkiran susu, biaya perawatan dan pengobatan yang cukup tinggi, serta pengafkiran ternak lebih awal (Abrar dkk, 2012). Mastitis dibedakan menjadi dua yaitu mastitis subklinis dan mastitis klinis. Bakteri yang paling banyak menyebabkan mastitis subklinis, didominasi antara lain oleh *Streptococcus agalactiae*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* mendominasi sebesar 91,5%, sedangkan *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *Coliform* dan lain-lain sebesar 8,5% (Supar dan Ariyanti, 2008).

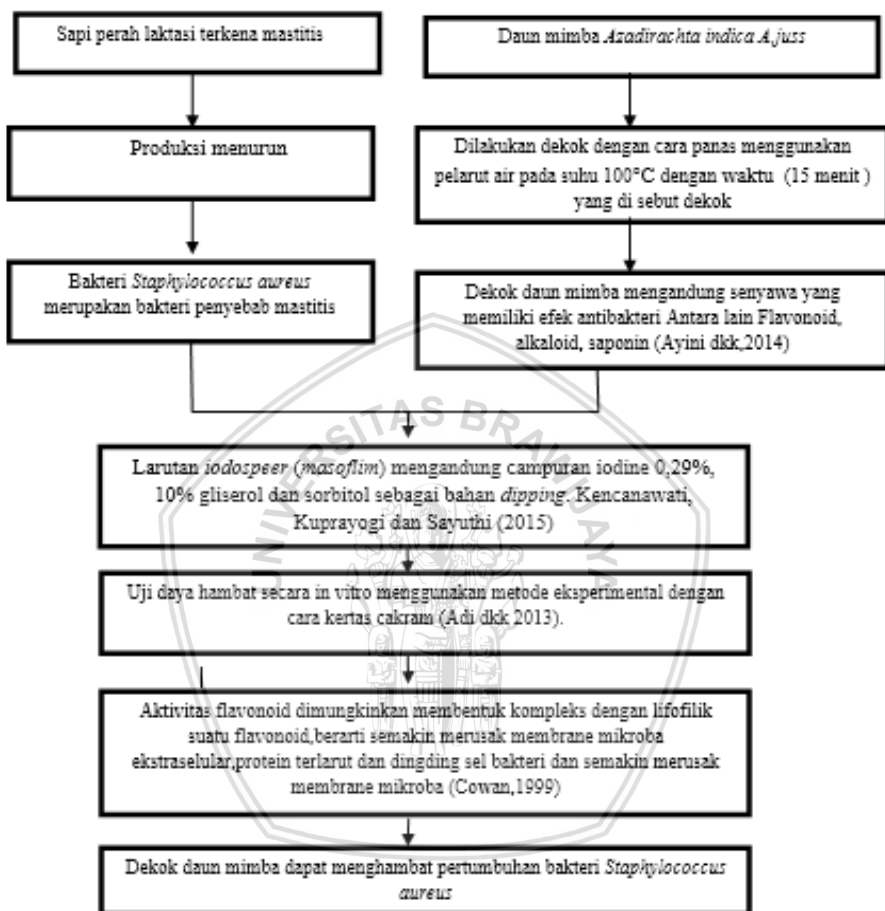
Kandungan daun mimba *Azadirachta indica* A. Juss mempunyai daya antibakteri, Zat aktif yang terkandung dalam tanaman mimba diantaranya adalah *azadirachtin*, *salanin*, *meliantriol*, *nimbin*, dan *nimbidin*. Senyawa *azadirachtin* merupakan kandungan utama daun mimba yang berfungsi sebagai repellent (sebagai penghalau) dan penghambat pertumbuhan mikroba. Mimba juga mengandung senyawa nimbin dan nimbidin yang merupakan senyawa alkaloid. Daun Mimba mempunyai kandungan kimia antara lain: Azadirachtin, paraisin, alkaloid dan komponen komponen minyak atsiri yang mengandung senyawa sulfide (Syarmalina dan Dian, 2005).

Flavonoid adalah senyawa fenol yang berfungsi untuk antimikroba, Mekanis antibakteri senyawa fenol dalm membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas sel dan membrane sitoplasma sebab kedua nya tersusun oleh protein.

Permeabilitas sel dan membrane sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan keseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga sel lisis (Carolyn dan Wulan, 2016)

Dekok merupakan salah satu ekstraksi dengan cara panas menggunakan pelarut air pada suhu 100°C dengan waktu (± 30 menit). Pembuatan dekok dapat dilakukan dengan cara segar dan cara simplisia. Perbandingan antara pelarut dengan bahan yaitu 100 ml dengan 30gr, 35gr, 40gr, 45gr, 50gr untuk konsentrasi 23%, 25%, 28%, 31%, 33%. Dekok daun mimba di rebus pada suhu mendidih selama 15 menit (Kurniawan, Sarwiyono dan Surjowardojo, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, dekok daun mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) diharapkan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan salah satu bakteri penyebab mastitis. Hal ini tentunya dapat menekan tingkat kejadian mastitis pada peternakan sapi perah, sehingga produksi susu meningkat.



Gambar 1. Kerangka pikir.

1.6 Hipotesis

Pengaruh konsentrasi dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah.





BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mastitis

Mastitis adalah suatu peradangan pada kelenjar internal ambing (Lutviandhitarani, Harjanti dan Wahyono, 2015). Mastitis dapat menurunkan produksi susu hingga mencapai 20% (Khodijah dkk, 2006). Hal ini menyebabkan peternak mengalami kerugian dan menurunkan pendapatan. Mastitis pada peternakan sapi perah di Indonesia dapat mencapai 85% dan sebagian besar mastitis ini bersifat subklinis. Mastitis dibedakan menjadi dua yaitu mastitis klinis dan mastitis subklinis. Pada umumnya peternak hanya mampu menilai ternak yang mengalami mastitis klinis karena memiliki tanda-tanda yang nyata yaitu ambing bengkak, kemerahan dan merasa kesakitan ketika mendapat sentuhan. Sedangkan mastitis subklinis tidak menunjukkan tanda klinis, namun terdapat kelainan tertentu pada susunya (Poeloengan, 2009). Mastitis disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme seperti bakteri, khamir dan juga kapang (Virgihani, 2011). Bakteri patogen yang biasanya menyebabkan mastitis yaitu *Streptococcus agalctiae*, *Staphylococcus aureus* (Wibowo, Suprayogi dan Sudjatmago, 2015), *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia feundii*, *Klebsiella pneumonia* dan *Aerobacter aerogenes* (Poeloengan, 2009).

Mastitis dibedakan menjadi 2 jenis yaitu mastitis klinis dan subklinis, Mastitis klinis merupakan mastitis yang ditandai dengan adanya gejala abnormalitas pada ambing dan pada susu yang dihasilkan dimana susu akan terlihat menggumpal atau cair, pada susu terdapat darah atau nanah, sapi mengalami

demam, sapi kelihatan lemah, nafsu makan sapi berkurang (Poeloengan, 2009). Pembengkakan atau kemerahan pada ambung, terjadi kenaikan suhu tubuh, denyut jantung, laju pernafasan (Virgihani, 2011). Mikroorganisme dapat mengakibatkan kerusakan susu (Cahyono, Padaga dan Sawitri, 2013). Serta pengerasan ambung dan penurunan fungsi ambung sehingga menyebabkan penurunan produksi dan penurunan kuliatas susu (Martindah dan Imas, 2015). Mastitis subklinis merupakan mastitis yang tidak menunjukkan gejala klinis (Virgihani, 2011). Mastitis subklinis adalah mastitis yang tidak menampakkan perubahan fisik pada ambung, susu yang dihasilkan tetapi menyebabkan penurunan produksi susu ditemukannya mikroorganisme patogen dan terjadi perubahan komposisi susu (Zalizar dkk, 2018). Oleh karena itu CMT (*California mastitis test*) merupakan salah satu uji yang dapat digunakan dalam pengujian mastitis pada sapi perah Surjowardojo (2008).

2.2 *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8- 1,0 μm (Aprilia, Sarwiyono dan Surjowardojo, 2015). *Staphylococcus aureus* bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif (Amalia, 2013). *Staphylococcus sp.* merupakan bakteri yang paling banyak diisolasi dari kasus mastitis klinis maupun subklinis (Widodo dan Indarjulianto, 2013). Menurut National Mastitis Council (1999) didalam Darmawan dan Akira (2010) *S. aureus* memiliki karakteristik seperti berikut : ukuran sedang, warna

putih kekuningan, dan memiliki koloni dengan pola hemolysis pada agar darah adalah α - dan β - hemolysis. Dengan pewarnaan gram berwarna biru-ungu (+), bulat dan bergerombol seperti anggur. Uji katalase dengan H_2O_2 3% positif, uji oksidase negatif, uji koagulase rabbit plasma positif dan mampu memfermentasi mannitol pada Mannitol Salt Phenol Red Agar . *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk kkokus bersifat non-motil, nonspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif. Tumbuh pada suhu 6,5-46° C dan pada pH 4,2-9,3 (Todar, 1998; Nurwantoro, 2001; Paryati, 2002).

Klasifikasi ilmiah bakteri

Domain: Bacteria

Kingdom : Eubateria

Filum : Firmicutes

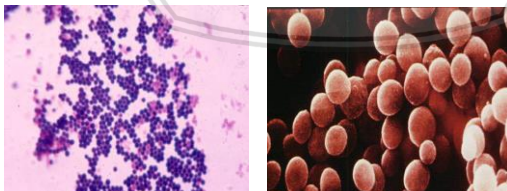
Kelas : Bacilli

Ordo : Bacillales

Famili : *Staphylococcaceae*

Genus : *Staphylococcus*

Spesies : *S. Aureus*



Gambar 2. *Staphylococcus aureus*. Todar (2008).

Staphylococcus aureus termasuk bakteri berbahaya, karena mampu memproduksi racun yang disebut enterotoksin

(Prasetyo, 2015). *Staphylococcus aureus* sering ditemukan sebagai mikroflora normal pada kulit dan selaput lendir pada manusia. Dapat menjadi penyebab infeksi baik pada manusia maupun pada hewan. Jenis bakteri ini dapat memproduksi enterotoksin yang menyebabkan pangan tercemar dan mengakibatkan keracunan pada manusia (Lutfi, 2014). Bakteri tersebut berbentuk menyerupai bola dengan garis tengah $\pm 1 \mu\text{m}$ tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur (menyerupai buah anggur), dapat pula tersusun empat-empat (tetrad), membentuk rantai (3-4) sel, berpasangan atau satu-satu. *S. aureus* merupakan gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal. Sehingga lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa yang punya potensi merusak atau menghambat sintesis dinding sel (Yuliana dkk, 2011).

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang tergabung, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dirusak oleh asam kuat atau lisozim. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada banyak pembenihan bakteri. *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan menghasilkan faktor virulensi hemolisin. Hemolisin dihasilkan saat *S. aureus* berkoloni dan bersifat menghancurkan sel darah merah (Widodo dan Indarjulianto, 2013).

2.3 Tanaman Daun Mimba

Pohon mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) merupakan pohon yang berfungsi sebagai peneduh jalan/pekarangan, reboisasi, penahan angin (wind breaks), pakan ternak, dan termasuk tanaman herbal (Wirawan dkk, 2017). Menurut Ambarwati (2007) Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) merupakan tanaman multi fungsi. Mimba merupakan pohon dengan ketinggian 10-15 meter. Mimba terdiri dari akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Batang tegak, berkayu, berbentuk bulat, permukaan kasar, dan berwarna coklat. Daun mimba dengan helaian berbentuk memanjang lanset bengkok, panjang 3-10 cm, lebar 0,5-3,5 cm, pangkal runcing tidak simetri, tepi daun bergerigi kasar, remasan berasa pahit, warna hijau muda. Tangkai panjang 8-20 cm, (Lidya, Karta, Candra, dan Andini, 2017).

Klasifikasi ilmiah mimba adalah sebagai berikut

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Dialypetaleae
Ordo	: Rutale
Famili	: Meliaceae
Genus	: <i>Azadirachta</i>
Spesies	: <i>Azadirachta indica</i> jus



Gambar 3. Daun Mimba

2.4 Kandungan Kimia Daun Mimba

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), terutama biji dan daunnya mengandung beberapa komponen hasil produksi metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, tanin, azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin dan nimbidin yang diduga sangat bermanfaat, Zat aktif yang terkandung dalam tanaman mimba diantaranya adalah azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin, dan nimbidin. Senyawa azadirachtin merupakan kandungan utama daun mimba yang berfungsi sebagai repellent (sebagai penghalau), dan penghambat pertumbuhan mikroba (Nurtiati, Hamida dan Tresnadi, 2001). Hasil pemeriksaan kandungan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A.Juss) bisa dilihat pada Table 1.

Tabel I. Hasil pemeriksaan kandungan ekstrak daun mimba
(*Azadirachta indica A.Juss*)

No	Senyawa Kimia	Hasil Pengamatan	Keterangan
1	Flavonoid	Merah jingga	+
2	Saponin	Terbentuknya busa	+
3	Terpenoid	Violet/ biru	+
4	Fenol	Biru kehitaman	+
5	Steroid	Biru	-
6	Alkaloid	Putih kuning/ jingga coklat	+

Sumber: Ramadhani, Agung dan Jimmy, (2017)

Keterangan: (+) Menunjukkan reaksi positif

(-) Menunjukkan reaksi negative

2.5 Zat Antibakteri Pada Daun Mimba

Daun mimba mengandung senyawa kimia yang dapat berperan sebagai zat antibakteri. Dari beberapa penelitian daun mimba mempunyai kandungan kimia antara lain : Azadirachtin, paraisin, alkaloid dan komponen-komponen minyak atsiri yang mengandung senyawa sulfida (Syarmalina dan Dian, 2005).

2.5.1 Terpenoid

Terpenoid berasal dari molekul isoprene ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH})-\text{CH}=\text{CH}_2$) dan kerangka karbonnya dibangun oleh penyambungan dua atau lebih satuan C_5 ini. Terpenoid ini dibagi menjadi beberapa macam, yaitu monoterpena dan siskuiterpene (C_{10} dan C_{15}) yang mudah menguap dan biasanya menjadi komponen utama penyusun minyak atsiri, triterpenoid dan steroid (C_{30}) yang tidak mudah menguap, dan pigmen karotenoid (C_{40}). Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri tidak begitu jelas, tetapi kemungkinan berhubungan dengan pengrusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Cowan, 1999).

2.5.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Mekanisme antibakteri dari senyawa flavonoid yaitu dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan juga menghambat metabolisme energi (Carolin, dan Wulan, 2016). Aktivitas flavonoid dimungkinkan membentuk kompleks dengan ekstraselular, protein terlarut dan dinding sel bakteri dan semakin lipofilik suatu flavonoid, berarti semakin merusak membran mikroba (Cowan, 1999).

2.5.3 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Kurniawan dan Wayan, 2015).

2.5.4 Saponin

Saponin mempunyai sifat polar, jadi saponin dapat larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter. Saponin dapat berfungsi sebagai antibakteri karena adanya gugus monosakarida dan turunannya (Cheeke, 2000).

2.5.5 Tanin

Secara kimia senyawa tanin dibagi menjadi dua golongan utama yaitu tanin terkondensasi yang biasanya terdapat pada paku-pakuan dan gimnospermae, serta tersebar luas dalam angiospermae, khususnya tumbuhan berkayu. Jenis tanin yang kedua adalah tannin terhidrolisis yang biasa ditemukan pada

tumbuhan berkeping dua. Tannin bersifat antibakteri melalui aktivitas mollekulnya yaitu membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hydrogen dan ikatan hidrofobik (Cowan, 1999).

2.5.6 Asam lemak

Biji mimba dilaporkan mengandung senyawa-senyawa asam lemak antara lain asam palmiat, asam stearate, asam oleat, etil oleat, asam oktadekanoat, ester dioktil heksadioat (Suirta, Puspawati, dan Gumiaty., 2007). Kemampuan asam lemak sebagai antibakteri dikarenakan asam lemak bersifat hidrofobik, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur membrane sel bakteri dan membran menjadi permeabel, kemudian akan menyebabkan kerusakan membran sitoplasma, sehingga terjadi koagulasi pada nucleoid (Nalina dan Rahim, 2007).

2.6 Media NA (Nutrient Agar)

Pembiakan bakteri di laboratorium membutuhkan media yang sesuai dengan lingkungan pertumbuhan bakteri, salah satu media yang sering digunakan adalah media NA (Nutrient Agar). Nutrient agar adalah medium yang di klasifikasikan sebagai medium sintetik terstruktur karena tersusun oleh komponen yang pasti dan jenis kualitasnya. Medium nutrient agar merupakan medium umum yang di gunakan untuk mengaktivasi berbagai jenis bakteri (Eviluginus, 2016). Menurut Wulandari, dkk., (2014) proses pembuatan media nutrient agar yaitu dengan melarutkan 10 gr nutrient agar untuk 500 ml aquades kedalam botol kaca dan ditutup almunium *foil*, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi (1 atm). Setelah itu media dituangkan

kedalam cawan petri masing-masing 10 ml dan dibiarkan hingga dingin dan padat.

Perlakuan menggunakan media nutrient agar koloni mikroorganisme yang di hasilkan lebih besar dan nyata mudah untuk diamati. Hal ini di karenakan media nutrient agar merupakan media yang sudah teruji secara klinis baik untuk pertumbuhan bakteri, sehingga proses metabolisme bakteri berlangsung optimal (Anisa dan Triastuti, 2015). Dalam medium nutrient agar terkandung pepton, yeast dan beef extract yang berfungsi sebagai sumber nitrogen dan sumber karbon, sumber vitamin dan beberapa senyawa lain yang menyokong pertumbuhan bakteri (Evilaginus, 2016).

2.7 Media Nutrient Broth

Media nutrient broth merupakan media yang sering digunakan dalam pembiakan bakteri. Menurut Rakhmawati (2012) Media *Nutrien broth* (NB) merupakan contoh dari medium kompleks yang merupakan salah satu medium yang dipakai sebagai tempat perkembangbiakan bakteri.

2.8 Metode Pengujian Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan membunuh bakteri dengan cara mengganggu metabolisme bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik dan bakterisidal. Uji aktivitas antibakteri dapat

dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (Jawetz Melnick, and Adelberg's, 2007).

1. Metode difusi

Metode difusi merupakan metode pengujian bakteri dengan cara penyebaran. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode lubang/sumuran, metode silinder, dan metode cakram kertas.

a. Metode lubang/sumuran

Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasikan dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri di amati ada tidaknya daerah hambatan disekitar lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

b. Metode silinder/ parit

Metode parit merupakan metode yang menggunakan suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji dibuat seperti parit. Parit tersebut diisi dengan zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang diperoleh adalah ada atau tidaknya zona hambatan disekitar parit, interpretasi sama dengan cara kirby bauer (Pratiwi, 2008).

c. Metode Cakram Kertas (Cara Kirby Bauer)

Metode cakram kertas yaitu metode pengujian menggunakan kertas cakram (paper disk) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas tertentu, sesuai dengan waktu optimum dari mikroba uji yaitu pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Pada metode difusi, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan

difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji (Kusmayati dan Agustini, 2007).

Parameter yang digunakan adalah zona bening. Zona bening adalah area bening di sekeliling cakram kertas sebagai indikasi tidak adanya atau terhambatnya pertumbuhan mikroorganisme akibat ekskresi zat antimikroba oleh kometitornya (Hariani dan Arif, 2007). Menurut Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012), Jumlah bakteri yang dijadikan syarat untuk uji sensitivitas yaitu 10^8 CFU/ml. Untuk menghitung zona hambat digunakan rumus sebagai berikut :

$$\frac{(DV-DC)+(DH-DC)}{2}$$

Keterangan :

DV: diameter vertikal zona bening pada media

DH: diameter horizontal zona bening pada media

DC: diameter cakram (6 mm)

Tabel 1. Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
>20 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10mm	Sedang
<5mm	Lemah

Sumber: Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012).





BAB III

MATERI DAN METODE

3.1 Lokasi dan Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 20 September – 21 Oktober 2017. Penelitian dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pembiakan bakteri, dan pengujian zat antibakteri. Laboratorium Ternak Perah Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang untuk pembuatan dekok meliputi pembuatan dekok daun mimba (*Azadirachta indica A. juss*).

3.2 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan:

1. Daun Mimba (*Azadirachta indica A. juss*) yang diperoleh BALITKABI Kendalpayak.
2. Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan merupakan isolasi bakteri dari sapi perah mastitis yang diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

3.3 Alat yang digunakan:

- | | |
|------------------------------|-------------------------|
| - Timbangan analitik | - Spatula |
| - Lampu spiritus atau bunsen | - Tissue |
| - Jangka sorong | - Toples |
| - Cawan petri | - Kertas label |
| - Autoklaf | - Kawat ose |
| - Mikro pipet | - Termometer |
| - <i>Water bath</i> | - <i>Aluminium foil</i> |
| - <i>Beaker glass</i> 500 mL | - Gelas L |
| - <i>Erlenmeyer</i> 500 mL | - Gunting atau pisau |
| - Pinset | - Plastik wrap |
| - Gelas ukur 250 mL | - Plastik klip |

- Inkubator
- Mikro tip 100 μ L
- Kertas cakram
- *Cork borer*
- Kain flanel

Bahan yang digunakan:

- Daun Mimba (*Azadirachta indica A. juss*)
- Media NA (*Nutrient Agar*)
- Media *Nutrient Broth* (NB)
- Aquades 400 mL



3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan percobaan yang dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui potensi zat anti bakteri pada Daun mimba *Azadirachta indica* A. juss. Metode yang digunakan pada penelitian yaitu menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Penentuan daya hambat ini menggunakan metode kertas cakram. Perlakuan yang digunakan adalah:

P0 : Larutan *Iodip* 10%

P1 : Dekok daun mimba 23% (30g Daun mimba + aquades 100 ml)

P2 : Dekok daun mimba 25% (35g Daun mimba + aquades 100 ml)

P3 : Dekok daun mimba 28% (40g Daun mimba + aquadea 100 ml)

P4 : Dekok daun mimba 31% (45g Daun mimba + aquades 100 ml)

P5 : Dekok daun mimba 33% (50g Daun mimba + aquades 100 ml)

3.4.2 Tahapan Penelitian

3.4.2.1 Tahap Pra Penelitian

1. Pengambilan daun mimba (*Azadirachta indica* A. juss) di daerah BAITKABI Kendalpayak. Daun yang diambil adalah daun muda.
2. Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi HPT (Hama dan Penyakit Tanaman) Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.
3. Sterilisasi alat menggunakan inkubator di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
4. Pembuatan dekok daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) di Laboratorium Ternak Perah Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang.

3.4.2.2 Prosedur Pembuatan Dekok Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) (Kurniawan dkk, 2013)

1. Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) yang diperoleh disiapkan dan dibersihkan terlebih dahulu.
2. Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60° C selama 24 jam.
3. Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. juss) yang sudah kering di grinding agar menjadi serbuk.
4. Untuk pembuatan dekok konsentrasi 23%, 25%, 28%, 31%, 33% serbuk daun mimba (*Azadirachta indica* A. juss) ditimbang sebanyak 30g, 35g, 40g, 45g, 50g gram ditambah dengan aquades sebanyak 100 ml lalu direbus dalam air dengan suhu 100°C selama ± 15 menit.
5. Setelah semua selesai, rebusan tersebut disaring menggunakan kain flannel. Hasil dekok daun mimba *Azadirachta indica* A. juss lalu disimpan pada suhu ruangan 26°C-28°C selama 24.

3.4.2.3 Prosedure Pembuatan Media NA (Nutrient Agar) (Prawira dkk. 2013)

1. Menyiapkan bahan media dengan komposisi 5 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades pada *erlenmeyer* 500 mL.
2. *Erlenmeyer* ditutup menggunakan *aluminum foil*, kemudian dipanaskan hingga mendidih.
3. Dilakukan sterilisasi dengan *autoklaf* bersuhu 121°C dengan
4. Tekanan 1 atm selama 15 menit.
5. Media yang berada di *erlenmeyer* (masih dalam keadaan panas) dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 10 mL.
6. Media dibiarkan hingga dingin dan membentuk gel.

3.4.2.4 Prosedur Pembuatan NB (Nutrient Broth) (Yudha dkk 2013)

1. Melarutkan 1,3 gr *nutrien broth* dengan 100 ml aquadest kedalam erlenmeyer dan ditutup alumunium foil, disteril dengan pemanas hingga mendidih.
2. Dimasukkan ke tabung reaksi masing-masing 5 ml, kemudian ditutup dengan kapas dan alumunium foil lalu distriril dengan autoklaf pada suhu 121^oC selama 15 menit dan tekanan 1 atm.

3.4.2.5 Pembiakan Bakteri

Menurut Fatisa (2013), prosedur pembiakan bakteri dapat dilakukan dengan cara:

1. Bakteri stock jadi *Staphylococcus aureus* diinokulasikan ke media padat menggunakan mikropipiet sebanyak 100 µl.
2. Diratakan menggunakan L glass steril
3. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37^oC.

3.4.2.6 Uji Zat Anti Bakteri

Uji zat anti bakteri atau daya hambat menggunakan metode cakram menurut menurut Oroh, Febby, Kandou, Pelealu dan Pandaiangan (2014) adalah sebagai berikut:

1. Mengembang biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dituangkan sebanyak 3 ml Media *Nutrien Agar* yang masih cair, kemudian cawan petri diaduk.
2. Cakram kertas dimasukan dalam dekok daun mimba dengan konsentrasi 23% dalam kontrol *iodips* dan kontrol negatif aquades selama ±1 menit.
3. Cakram kertas yang sudah direndam dalam dekok diletakkan secara aseptik diatas permukaan media nutrien agar yang telah diinokulasi *Staphylococcus aureus* dengan pinset steril.

4. Cawan petri kemudian dibungkus dengan plastik warp sampai rapat lalu di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
5. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona bening dihitung diameter dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris untuk menentukan efektivitas antibakteri. Zona hambat diukur dengan cara zona hambat panjang dan lebar dibagi dua dikurangi diameter kertas cakram. Jumlah bakteri yang dijadikan syarat untuk uji sensitivitas yaitu 10⁵-10⁸ CFU/ml. Susanto, Drajad dan Ruga (2012) untuk menghitung zona hambat. Digunakan rumus sebagai berikut.

$$\frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

DV: Diameter vertikal zona bening pada media.

DH: Diameter horizontal zona bening pada media.

DC: Diameter cakram (6 mm)

Tabel 2. Kategori kekuatan zat antibakteri berdasarkan diameter zona hambat

Diameter	Kekuatan daya hambat
>20 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
6-10mm	Sedang
<5mm	Lemah

Sumber: Susanto, Sudrajat dan Ruga (2012).

3.5 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah daya hambat yaitu luas zona bening yang terbentuk pada media yang

terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* dalam menghambatan pertumbuhan bakteri.

3.6 Analisa Data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), dengan perlakuan dan ulangan masing-masing 6x4. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), apabila terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan maka akan di uji menggunakan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test).



3.7 Batasan Istilah

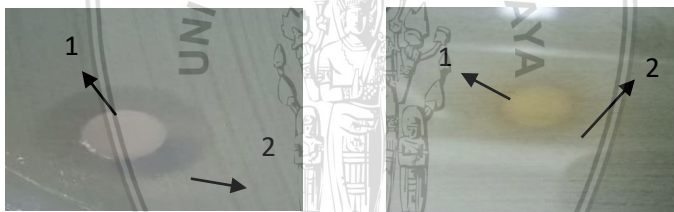
Media Nutrient Agar	: Medium yang berbentuk padat untuk pengujian bakteri.
Media Nutrient Agar	: Medium yang berbentuk cair untuk pertumbuhan bakteri.
Mastitis	: Peradangan pada ambing disebabkan oleh infeksi bakteri.
Dekok daun Mimba	: Cairan hasil ekstraksi daun mimba menggunakan pelarut air pada suhu 100°C sampai titik didih dengan waktu kurang lebih 15 menit. Zat anti bakteri Suatu zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dan bahkan dapat mematikan bakteri.
Daya hambat	: Kemampuan dari air dekok daun mimba untuk menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .
<i>Staphylococcus aureus</i>	: Bakteri patogen penyebab penyakit mastitis.
Cakram kertas	: Metode yang digunakan untuk menguji zat antibakteri.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kemampuan daya hambat antibakteri Dekok Daun Mimba (*Azadirachta indica* A.juss) Terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kemampuan daya hambat antibakteri dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, pengujian ini di lakukan dengan metode difusi cakram yaitu untuk mengetahui zat antibakteri yang ditunjukkan oleh zona hambat, zona hambat terlihat sebagai area jernih atau bersih mengelilingi cakram tempat zat dengan aktivitas antimikroba terdifusi. Zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dapat di lihat pada Gambar 4 dan hasil rataan dapat dilihat pada Tabel 3. sebagai berikut:



Gambar 4. Zona daya hambat dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Keterangan : 1. Kertas Cakram
2. Zona Hambat

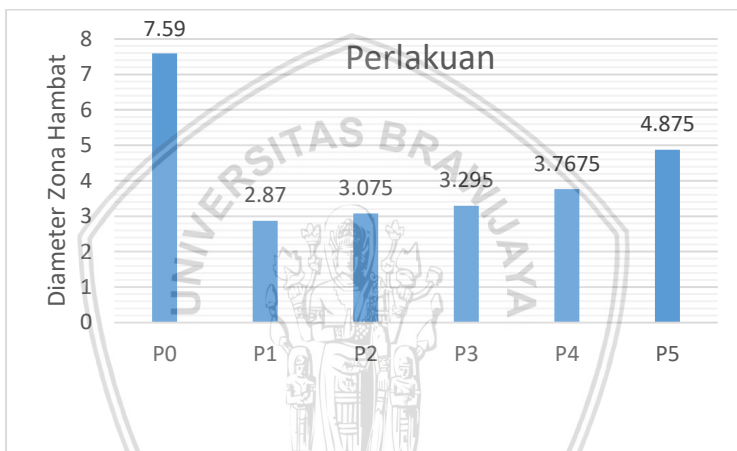
Tabel 3. Hasil rata rata daya hambat berbagai konsentrasi dekok daun mimba terhadap bakteri.

Perlakuan	Rata-rata diameter zona hambat (mm)	Kategori
<i>Staphylococcus aureus</i>		
P0	7,59± 0,798 ^b	Sedang
P1(23%)	2,87± 0,360 ^a	Lemah
P2(25%)	3,075±0,165 ^a	Lemah
P3(28%)	3,295±0,386 ^a	Lemah
P4(31%)	3,7675±0,554 ^a	Lemah
P5(33%)	4.8275±0,444 ^a	Lemah

Keterangan: huruf a dan b pada Superskrip menunjukkan perbedaan sangat nyata ($P<0,01$)

Pada Tabel 3. Menunjukan rata- rata diameter zona hambat dekok daun mimba (*Azadirachta indica A.juss*) dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dipengaruhi karena pemberian konsentrasi yang berbeda antar perlakuan, dimana P5 dengan konsentrasi paling tinggi sebesar 33%. Hal tersebut sesuai dengan Rakhmawati (2014) bahwa semakin besar konsentrasi instraksi ekstrak yang diberikan maka semakin besar pula diameter daya hambat terbentuk, karena semakin besar komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak. Dengan konsentrasi P1 (23%), P2 (25%), P3 (28%), P4 (31%) dan P5 (33%) belum dapat menggantikan larutan *iodips* (P0) sebagai antimikroba terhadap mastitis. Menurut Kencanawati, Kuprayogi dan Sayuthi (2015) larutan *iodospeer* mengandung campuran iodine 0,29%, 10% gliserol dan sorbitol sebagai bahan dipping, mampu mengurangi dan menghambat pertumbuhan bakteri. Fatisa (2013) bahwa *iodip* memiliki kekurangan yaitu dapat menimbulkan residu pada produk susu resistensi.

Hasil ANOVA dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan berbeda sangat nyata ($P < 0,01$). Hasil analisis perhitungan disajikan pada Lampiran 6. Adapun grafik zona hambat dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Rata-rata diameter zona hambat dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A.juss)

Pada gambar 5. Menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara konsentrasi yang di berikan, dekok daun mimba dengan konsentrasi 33% memiliki kemampuan daya hambat paling besar tetapi dekok daun mimba belum dapat menyamai daya hambat *iodips*. Hal ini di pengaruhi faktor efektifitas daya hambat dekok daun mimba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu kurang tingginya konsentrasi yang digunakan dan lama waktu perebusan dekok daun mimba

yang terlalu singkat dengan waktu perebusan 15 menit, serta pelarut yang digunakan seperti aquades yang belum termasuk kategori kuat. Kartika, Wardani dan Prasetyaningrum (2013) menjelaskan Semakin lama proses ekstraksi, maka kontak antara pelarut dengan zat terlarut akan semakin lama sehingga proses pelarutan senyawa fenolik akan terus berlangsung dan berhenti sampai pelarut jenuh terhadap solute, Semakin lama ekstraksi maka lebih optimal pelarut menembus dinding sel dan merusak jaringan bahan akan semakin optimal dan akhirnya senyawa fenol yang terlarut lebih banyak Menurut Kusmayati dan Agustini (2007) bahwa ekstraksi menggunakan pelarut etanol sangat efektif pada senyawa yang bersifat polar karena etanol dapat menarik senyawa yang bersifat polar kedalam ekstrak. Hal tersebut juga diperjelas oleh Ranjani (2013) bahwa etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, mudah di peroleh dan selektif sehingga diharapkan semua senyawa yang terkandung di dalam simplisia dapat diambil selain itu etanol bersifat tidak toksik serta ekonomis. Kualitas dan kuantitas zat yang terkandung didalam tanaman yang di tentukan oleh faktor lingkungan tempatnya tumbuh seperti iklim, tanah dan sinar matahari. Faktor yang mempengaruhi aktifitas antibakteri diantaranya pH lingkungan, komponen pembenihan stabilisasi zat aktif besarnya inokulum, masa pengeraman dan aktifitas metabolik bakteri (Maherti, 2007).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin meningkat grafik yang dihasilkan maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Hal ini karena semakin tinggi konsentrasi yang di berikan maka semakin besar zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal tersebut dijelaskan oleh Effa dan Puetri (2015) bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan kandungan bahan aktif yang berfungsi sebagai

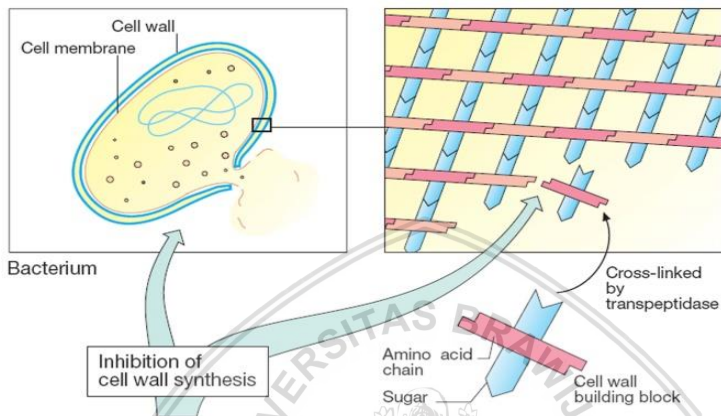
bahan anti mikroba semakin meningkat sehingga kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan semakin besar.

4.2 Mekanisme kerja Antibakteri Dekok Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Dekok daun mimba (*Azadirachta indica* A. juss) memiliki zat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aures* yang di tandai dengan terbentuknya zona hambat, Hal ini di terangkan oleh oleh Effa dan Puetri (2015) bahwa zona jernih yang terbentuk disekitar cakram merupakan besarnya zona hambat pertumbuhan *S.aureus*. Zona hambat yang terbentuk berhubungan dengan zat aktif yang terdapat di daun mimba. Kandungan bahan aktif utama dari mimba ialah azadirachtin, salanin, meliantriol, nimbin dan nimbidin. (Javandira, I ketut dan I gusti, 2016).

Tanaman mimba mengandung senyawa bioaktif baik pada bagian batang, daun maupun bijinya Supriyanto dkk (2017). Adapun kandungan tanaman mimba diantaranya *flavonoid*, *saponoin*, *alkaloid* dan *nimbin-nimbin* lainnya yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, antara lain bahwa flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, *flavonoid* mengandung senyawa *fenol*. *Fenol* merupakan sejenis alkohol bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat fenol memiliki kemampuan mendenaturasi protein dan merusak dinding sel bakteri (Kurniawan dan Wayan, 2015). Sebagai antibakteri senyawa *fenol* ini memiliki mekanisme kerja dengan merusak struktur sel bakteri dan menghambat proses pembentukan dinding sel, sehingga dapat menyebabkan lisis pada dinding sel

bakteri (Susanti, 2006). Mekanisme kerja antibakteri dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Kerusakan membran sel yang mengakibatkan terjadinya lisis dan kematian sel bakteri (Pelcezar and chen, 2010).

Mekanisme kerja senyawa antibakteri memang bervariasi dan kompleks, selain rusaknya dinding sel bakteri, kemampuan senyawa *fenol* untuk mendenaturasi protein juga dapat menjadi penyebab matinya sel. Sebagian struktur membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak. Ketidak stabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan sel bakteri menjadi terganggu. Gangguan integritas sitoplasma pada bakteri berakibat pada lolosnya makromolekul dan ion dari sel (Sasongko, Wahyu dan Herman, 2014). Protein yang mengalami denaturasi dan koagulasi akan kehilangan aktivitas fisiologis, sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik.

Perubahan struktur pada dinding sel bakteri akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga pertumbuhan sel akan terhambat dan kemudian sel menjadi rusak. Dinding sel mikroba merupakan mukopeptida yaitu kompleks polimer dari asam amino yang terlihat secara bersilang oleh rantai peptide yang memiliki pori-pori untuk melewatkan molekul-molekul kecil sehingga terjadi intraksi senyawa antimikroba dengan mukopeptida (dinding sel bakteri) yang menyebabkan dinding sel bakteri rusak (Saraswati, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian ini, bahwa daya hambat dekok daun mimba belum optimal menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada sapi perah. Hal ini dipengaruhi kurang tinggi konsentrasi yang digunakan dan lama waktu perebusan yang terlalu singkat selama 15 menit, serta pelarut yang digunakan seperti aquades belum termasuk kategori kuat. Oleh sebab itu perlu penelitian lebih lanjut tentang daun mimba dengan metode sumuran untuk mengetahui perbandingan metode cakram dan metode sumuran dan konsentrasi lebih dari 33% terhadap daya hambat bakteri *staphylococcus aureus* yang lebih optimal untuk di aplikasikan ke lapang.



BAB V

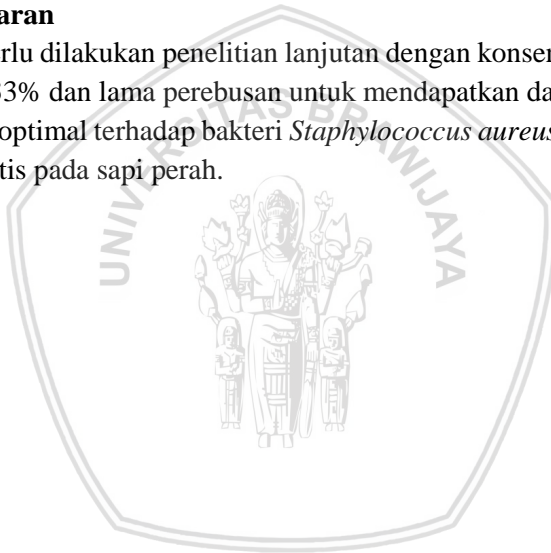
KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Konsentrasi dekok daun mimba sampai dengan 33% belum menghasilkan daya hambat yang optimal. sehingga belum bisa menggantikan larutan *iodip* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan konsentrasi lebih dari 33% dan lama perebusan untuk mendapatkan daya hambat yang optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis pada sapi perah.





DAFTAR PUSTAKA

- Abrar, M., I Wayan T.W., Bambang P.P., Mirnawati S., dan Fachriyan H.P. 2012. Isolasi dan Karakteristik Hemaglutinin *Staphylococcus aureus* Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. Jurnal Kedokteran Hewan. ISSN : 1978 – 225 X. Vol. 6.
- Adi, G. R., Sarwiyono dan P. Surjowardojo. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Penyebab Penyakit Mastitis Sapi Perah. Jurnal Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Adi., Lukas. T. 2008. Tanaman Obat dan jus. Agromedia pustaka. Jakarta.
- Anisah dan T. Rhayu. 2015. Media Alternatif Untuk Pertumbuhan Bakteri Menggunakan Sumber Karbohidrat Yang Berbeda. Seminar Nasional Xii Pendidikan Biologi Fkip Uns
- Ambarwati. 2007. Efektivitas Zat Antibaktri Biji mimba (*Azadirachta indica*) Untuk Menghambat pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureus*. *Journal Biodiversitas*, 8(3), 320-325
- Amanati, L.2014. Uji Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Bacillus Cereus*pada Produk Mi Instan Yang Beredar Dipasaran.Berita Litbang Industry. Vol. 3 No. 2: 73 – 80.
- Aprillia, M.H., Sarwiyono, dan P. Surjowardojo. 2015. Ekstrak Metanol Daun Kersen (*Muntingia Calabura L*) Sebagai Antimikroba Alami Terhadap Bakteri

Staphylococcus Aureus Penyebab Mastitis Subklinis
Pada Sapi Perah . Fakultas Peternakan.Universitas
Brawijaya, Malang

- Ayini U., H. B. Siti., dan . C. D. Titis. 2014. Efek antibakteri Ekstrak Daun Mmba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap bakteri *Vibrio Algynoliticus* Secara in Vitro.Journal of Biology dan Biology Education.Biosantifika 6 (1)
- Carolyn, N., dan N. Wulan. 2016. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*piper betel*) Sebagai Alternative Terapi *acne vulgaris*. Majority. 5(1):140-145
- Cahyono, D., M.C. Padaga dan M.E. Sawitri. 2013.Kajian Kualitas Mikrobiologi (*Total Plate Count (TPC)*, *Entero Bacteria Cede* Dan *Staphylococcus Aureus*) Susu Sapi Segar Di Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo. Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak. Vol. 8, No. 1 Hal 1-8
- Cheeke, P.R. 2000. Actual And Potential Applications Of *Yucca Schidigera* And *Quillaja Saponaria* Saponins In Human And Animal Nutrition. American Society of Animal Science
- Cowan, M.M. 1999. Plants Product As Antimicrobial Agents. Clinical Mikrobiology Reviews. 12 (4): 564-581
- Darmawan, S. Y dan A. Akira. 2010. pravelensi patogen Penyebab Mastitis Subklinis (*Staphylococcus Aureus* Dan *Streptococcus Agalactiae*) Dan Patogen Penyebab Mastitis Subklinis Lainnya Pada Peternak Skala Kecil Dan Menengah Di Beberapa Sentra Peternakan Sapi Perah Di Pulau Jawa. Balai Pengujian Dan Penyidikan Penyakit Hewan Dan Kesmavet (BP3HK).Bandung

- Effa dan N. R. Puetri. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Isolat Dari Penderita Faringitis. Sel Vol. 2 (2): 57-65
- Evilaginus. 2016. Medium Nutrient Agar – Komposisi, Kegunaan dan Cara Membuatnya. <https://mikrobio.net/mikrobiologi-dasar/medium-nutrient-agar.html> diakses tanggal 01 November 2016
- Fabry, W., P.Q. Okemo, and R. Ansorg. 1998. Antibacterial Activity Of East African Medical Plants. Journal of Ethnopharmacology 60(1) : 79-84
- Fatisa, Y. 2013. Daya Antibakteri Estrak Kulit Dan Biji Buah Pulasan (*Nepheliummutabile*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Secara *In vitro*. JurnalPeternakan. 10(1):31.
- Hariani dan Arif. 2007. Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 3. Penebar Swadaya. Jakarta 2.
- Nalina, T. and Rahim, Z.H.A. 2007. The Crude Aqueous Extract of Piper Betle L and Its Antibacterial Effect Towards *streptococcus mutans*. Am. J. Biotechnol biochem. 3 (1):10
- Hillary L.M., E. Endang, dan K. L. Laella. 2016. Efek Berbagai Dosis Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica A. Juss*) Terhadap Penyembuhan Luka Insisi Pada Mencit Swiss Webster Jantan. Journal of medicine and health. 1(3):241-251
- Imas, S. N. dan E. Martindah. 2015. Pengendalian Mastitis Subklinis melalui Pemberian Antibiotik Saat Periode Kering pada Sapi Perah. WARTAZOA. 25(2):065-074

- Jawetz, Melnick, and Adelberg's. 2007. Medical Microbiology: Medica 1 Mycology. 24 Edition. Mc Graw Hill Company: New York
- Kartika, D.S, D. H. Wardani, A. Prasetyaningrum. 2013. Kajian Isolasi Senyawa Fenolik Rumput Laut *Euceuma cottonii* Berbantu Gelombang Micro Dengan Variasi Suhu dan Waktu. Jurnal Teknik Kimia. 3 (19): 38-43.
- Kencanawati A.P., T. H. Suprayogi dan S. M. Sayuthi. 20RA15. Total Bakteri Dan Derajat Keasaman Susu Sapi Perah Akibat Perbedaan Lama Waktu *Dipping* Menggunakan Larutan *Iodosfor* Sebagai Desinfektan. Animal Agriculture Journal 4(1): 127-131
- Kenneth, T. 2008. Online Textbook of Bacteriology. University of Winsconsin. Available from: <http://textbookofbacteriology.net/bacteriology.html>
- Krishna, D dan Amalia. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* terhadap *Amoxicillin* dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. JSV : 31 (2).1-13
- Khodijah.S.,B..J, Tuasikal.,I.Sugoro dan Yusneti.2006. pertumbuhan Agalactiae Di Sebagai Bakteri Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah.Seminar Nasional Peternakan Dan veteriner Batan. Jakarta

- Kurniawan, I., Saarwiyono dan P. Surjowardojo. 2013. Pengaruh Teat Dipping Menggunakan Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Tingkat Kejadian Mastitis. Program Studi Produksi Peternakan. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya. Malang
- Kurniawan, Betta, dan F.A. Wayan. 2015. Binahong (*Cassia Alata L*) As Inhibitor Of *Escherichia coli* Growth. J Mourity vol : 4 No 4
- Kusmayati dan N.W.R Agustini,. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Anti Bakteri Dari Mikro Alga (*Phorphyridium cruentum*). Biodiversitas, vol. 8 (1): 48-53
- Levinson, W. 2008. Review of Medical Microbiology and Immunology, 10th edition. California: Mc Graw Hill: 133-142
- Lidya, N. D., I. W. Karta, N. L. W. Candra dan N.M.D. Andini. 2017. Uji Efektivitas Larvasida Daun Mimba (*Azadirachta Indica*) Terhadap Larva Lalat *Sarcophaga* Pada Daging Untuk *Upakara Yadnya* Di Bali . Jurnal Sains dan Teknologi . P-ISSN : 2303-3142 E-ISSN : 2548-8570 Vol. 6, No 1. hal : 126
- Lutviandhitarani,G., D.W.Harjanti dan F.Wahyono.2015. Green Antibiotik Daun Sirih (*Piper Batle L*) Sebagai Pengganti Antibiotik Komersial Untuk Penganan mastitis.Agripet Vol.15,No.1
- Maherti, I. D. 2007. Efek Anti Bakteri Ekstrak Daging Buah Avocad (*Persea mmaricana*) Terhadap *Streptococcus mutan*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi UI. Jakarta

- Nurwantoro dan S. Abbas. (2001) Mikrobiologi Pangan Hewani Nabati. Penerbit Kanisius: Yogyakarta
- Nalina, T. and Rahim, Z.H.A. 2007. The Crude Aqueous Extract of *Piper Betle L* and Its Antibacterial Effect Towards *streptococcus mutans*. Am. J. Biotechnol biochem. 3 (1):10
- Nurtiati, Hamidah & Tresnadi, W. (2001). Pemanfaatan Bioinsektisida Ekstrak Daun *Azadirachta indica A. Juss* Sebagai Pengendali Hayati Ulat Daun Kubis *Plutella xycolotella*. Jurnal MIPA, 6(i), 55-62.
- Oroh, S. B., E.F. Febby, Kandou, J. Pelealu dan D. Pandaiangan. 2014. Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol *Sellaginella delicatula* Dan *Diplazium Dilatatum* Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Ps Biologi Fmipa. Universitas Sam Ratulangi, Manado
- Paryati, S.P.Y. 2002. Patogenesis Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah Yang Di Seabkan Oleh *Staphylococcus aureus* .Makalah Pengantar Falsafah Sains. Institute Pertanian Bogor
- Pratiwi, S. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Airlangga: Jakarta. Hal: 22-42, 188-189
- Retnowati, Y., Nurhayati B. Dan Nona W. P. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambilo (*Andrographis Paniculata*). Saintek, Vol 6, No 2.1-9
- Prawira, Sarwiyono dan P. Surjowardojo. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntinga calabaru L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri (*Staphylococcus*

aureus) Penyebab Mastitis pada Sapi Perah. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang

Pelczar, M. and E.S. Chan. 2010. Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi Ke-2. Universitas Indonesia Jakarta

Poelongan, Masniari. 2009. Aktivitas Air Perasan Dan Ekstrak Etanol Daun Encok Terhadap Bakteri Yang Di Isolasi Dari Sapi Mastiti Subklinis. Seminar Nasional Teknologi Peternakan. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor

Purnomo, A., Hartatik, Khusnan, S. I. O., Salasia dan Soegiyono. 2006. Isolasi dan Karakterisasi *Staphylococcus aureus* Asal Susu Kambing Peternakan Ettawa. Media Kedokteran Hewan. 22 (3): 142 – 147

Prasetyo, B. 2015. Identifikasi Gen Enterotoksin dan Exfoliatif Isolat *Staphylococcus Aureus* Asal Susu Sapi Perah dan Susu Kambing Dari Bogor. Jurnal Matematika, Saint, dan Teknologi. Vol16(2) : 50-59

Rakhmawati. 2012. Interaksi Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera* L.) Dan Daun Sirih (*Piper Bettle* L.) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro*. Jurnal EduBio Tropika, Volume 2, Nomor 1: 121-186

Ramadhani N., Agung Giri S., Jimmy A. 2017. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss) Sebagai Antibakteri Secara Klt-Bioautografi Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* D *Escherichia Coli*. Jurnal Ilmiah IbnuSina, 2 (1) : 74-81

- Randjani, Ratna, S, M. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica L*) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Calyptra : Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya Vol : 2 No 1
- Yuliana, R. N. Bialangi dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* pada Media yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*). Saintek, Vol 6, No 2.1-9
- Sasongko, P., W. Mushollaeni, dan Herman. 2014. Aktivitas Antibakteri Asap Cair Dari Limbah tempurung Kelapa Terhadap Daging Kelinci ASAP. Buana Sains Vol.14 No.2: 193-197
- Suirta, I.W., N. M. Puspawati, dan. N. K. Gumiaty. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Larvasida dari Biji Mimba (*Azadirachta indica A. Juss*) terhadap Larva nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*). Jurnal Kimia, 1, 47-54.
- Saraswati, D. 2011. Pengaruh Konsentrasi Terhadap Daya Hambat *E.Coli*. Jurnal Health dan Sport. Volume 3 (2): 285-362
- Supar dan Ariyanti T. 2008. Kajian Pengendalian Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. Dalam: Diwyanto K, Wina E, Priyanti A, Natalia L, Herawati T, Purwandaya B, penyunting. Prosiding Lokakarya Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas 2020. Jakarta, 21 April 2008. Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. hlm. 360-366
- Supriyanto, B.W. Simon., I. M. Rivai dan Yulianta. 2017. Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan (*Azadirachta*

indica Juss) Prosiding Snatif ke-4. ISBN: 978-602-1180-50-1

Surjowardojo,P., Suyadi., H. Luqman dan Aulani'am.2008. Ekspresi Produksi Susu Pada Sapi Perah Mastitis. Journal Ternak Tropika Vol. 9. No.(2): 1-11

Suryowardojo, P. 2008. Karakteristik Fenotipik Mastitis dan Marka Protein *IL-8* pada Sapi Perah *Friesian Holstein*. Program Doktor Ilmu Pertanian. Minat Ilmu Ternak. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya. Malang

Suryowardojo, P. 2012. Penampilan Kandungan Protein dan Kadar Lemak Susu Pada Sapi Perah Mastitis *Friesian Holstein*. J. Exp. Life Scie. 2 (1): 42-48

Susanto, Sudrajat dan Ruga. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah(*Shorea leprosula miq.*) Sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. Jurnal Kesehatan.11(2):1-15

Susanti, A. 2006. Daya anti bakteri ekstrak etanol daun beluntas (*Pluchea indicaless*) terhadap *Escherichia coli* secara *invitro*. Fakultas Kedokteran HewanUNAIR. Surabaya

Syarmalina dan Dian, R, L. 2005. Uji Efek Antibakteri Daun Mimba (*Azadirachta indica A.juss*) Terhadap Bakter. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII

Suwito,Widodo dan Indarjulianto S. 2013 .*Staphylococcus Aureus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Peranakan Etawah: Epidemiologi, Sifat

Klinis, Patogenesis, Diagnosis Dan Pengendalian.
WARTAZOA Vol. 23 No. 1. 1-7

- Todar, K. (1998) Bacteriology 330 Lecture Topics: *Staphylococcus*. Kenneth Todar University of Wisconsin Department of Bacteriology, Wisconsin, USA
- Toy T. S. S., B S. Lampus, B. S. P. Hutagalung. 2015. Uji Daya Hambat Ekstrak Rumput Laut *Gracilaria* Sp Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Jurnal e-GiGi (eG), Volume 3 (1): 153-159.
- Virgihani, K. 2011. Tinjauan Resistensi *Streptococcus Agalactiae* Penyebab Mastitis Subklinis Di Peternakan Perah Kunang Bogor Terhadap Beberapa Antibiotik (Studi Kasus). Repository, Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor
- Wibawan, I.W.T., Ch. Lämmler, and F.H. Pasaribu. 1997. Role Of Hydrophobic Surface Proteins In Mediating Adherence Of Group B *Streptococci* To Epithelial Cells. J. Gen Microbiol. 138:1237-1242
- Wibowo, A., T.H. Suprayogi dan Sudjatmogo. 2015. Tampilan *Total Plate Count* dan *Staphylococcus Aureus* Pada susu Sapi Friesian Holstein Akibat *Dipping* Dengan *Iodosfor* Pada Berbagai Konsentrasi. Animal Agriculture Journal 4(1): 88-92
- Wulandari, D., Sarwiyono dan Surjowardojo. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor (*Mongira oleifera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus agalactiae* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah.

Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya
Malang

- Wirawan, Oka, I.G.K., Melkianus, L.J., Dan Bambang, H. 2017. Efek Ekstrak Daun Mimba Lengkuas Dan Sereh terhadap Infestasi Caplak Pada Anjing. PARTNER, NO 1: 37-42.
- Yudha, M. P., Sarwiyono dan P. Surjowardojo. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah. Jurnal Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Zalizar, L., Sujono, I. Dian., A.S. Yopi. 2018. Kasus Mastitis Sub Klinis Pada Sapi Perah Laktasi Di Kecamatan Pujon Kabupaten Malang. Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan. 28 (1): 35 – 41

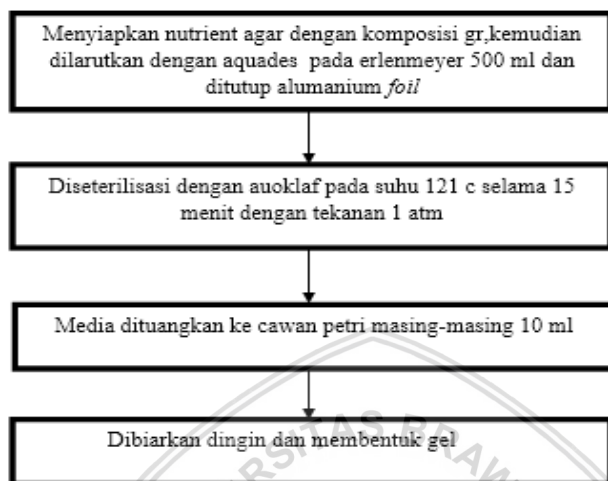


Lampiran 1. Prosedur Penelitian

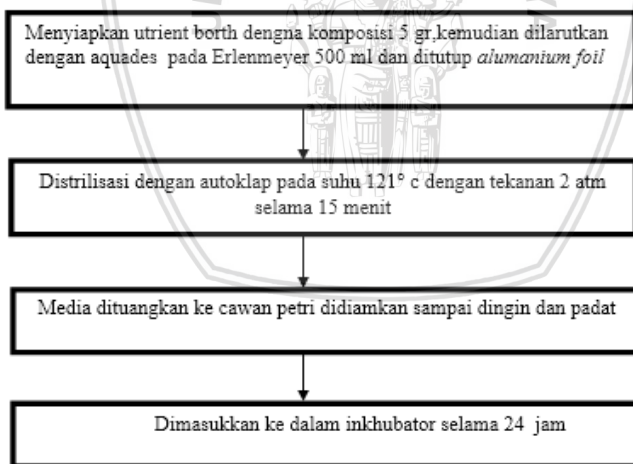
1. Pembuatan Dekok Daun Mimba



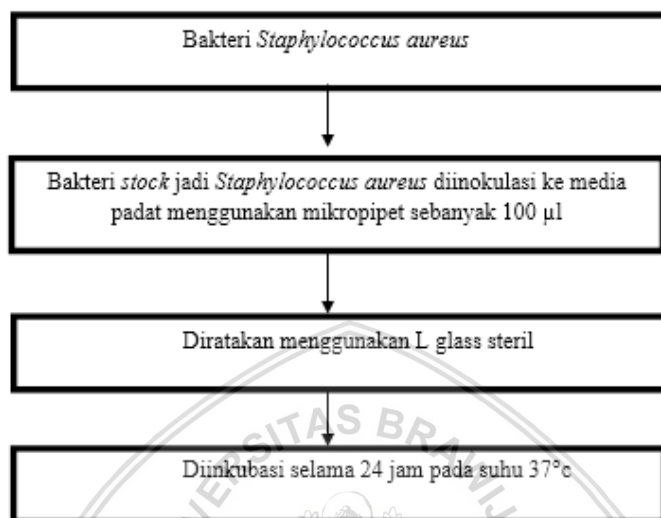
2. Pembuatan Nutrient Agar (NA)



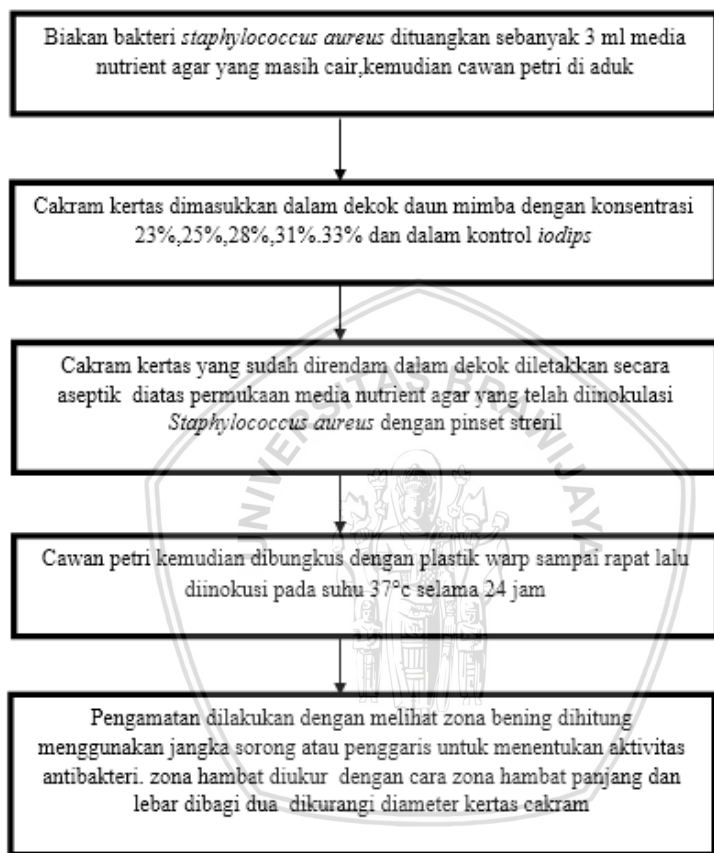
3. Pembuatan Nutrient Borth (NB)



4. Pemiakan Bakteri



5. Uji Zat Antibakteri



Lampiran 2. Analisi Data

Perlakuan	u1	u2	u3	u4	Total	Rataan	SD
P0	7,72	7,41	6,65	8,58	30,36	7,59	0,79854
30%	2,89	2,36	3,18	3,05	11,48	2,87	0,360093
35%	3,08	2,84	3,17	3,21	12,3	3,075	0,165831
40%	3,62	3,55	3,24	2,77	13,18	3,295	0,386997
45%	4,03	4,38	3,11	3,55	15,07	3,7675	0,55488
50%	4,78	5,12	5,05	4,36	19,31	4,8275	0,34442
TOTAL	26,12	25,66	24,4	25,52	101,7		

$$\begin{aligned}
 Fk &= (\sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij})^2 / (txr) \\
 &= 101,7^2 / (6 \times 4) = 430,9538 \\
 JK_{Total} &= \sum_{i=1}^t \sum_{j=1}^r Y_{ij}^2 - FK \\
 &= 7,72^2 + 7,41^2 + 6,65^2 + 8,58^2 + \dots + 25,52^2 - 430,9538 = 67,78545 \\
 JK_{Perlakuan} &= \sum_{i=1}^t (\sum_{j=1}^r Y_{ij})^2 / r - FK \\
 &= 30,66^2 + 11,48^2 + 12,3^2 + 13,18^2 + 15,07^2 + 19,31^2 / 4 - 430,9538 \\
 &= 63,6721 \\
 JK_{Galat} &= JK_{Total} - JK_{Perlakuan} \\
 &= 67,78545 - 63,6721 = 4,11335
 \end{aligned}$$

Tabel ANOVA

Sk	Db	JK	KT	Fhit	0.05	0.01
perlakuan	5	63,6721	12,73442	55,72576s	2,77	4,25
Galat	18	4,11335	0,228519			
Total	23					

Keterangan :

- F hitung >F_{0,01} menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata (P<0,01)

UJI DUNCAN

$$SE = \sqrt{(KT_{Galat}) / r}$$

$$= \sqrt{0,228519 / 4} = 0,1159$$




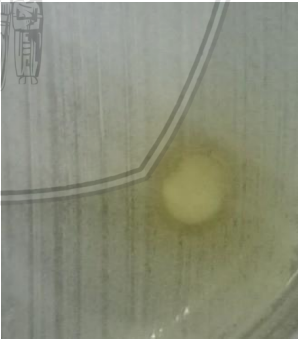
$$JND \ 1\% = 4,07 \times 0,1159 = 0.4717$$

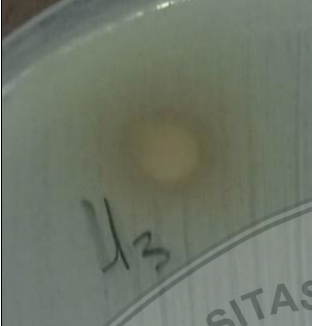



JND 1%	2	3	4	5	6
TABEL	4,07	4,27	4,38	4,46	4,53
JNT	0,4717	0,4948	0,5076	0,5169	0,5250





Tabel Notasi

Perlakuan	Rataan	Notasi
Kontrol	7,59	b
23%	2,87	a
25%	3,0752	a
28%	3,295	a
31%	3,7675	a
33%	4,8275	a

Lampiran 3. Dokumentasi penelitian

<p>Zona hambatan P0</p> 	<p>Zona hambatan P1 (30%)</p> 
<p>Zona hambatan P2 (35%)</p> 	<p>Zona hambatan P3 (40%)</p> 

<p>Zona hambat P4 (45%)</p> 	<p>Zona hambat P5 (50%)</p> 
<p>Pengovenan daun mimba</p> 	<p>Daun mimba setelah dioven</p> 
<p>Perebusan</p>	<p>Penyaringan</p>

	
<p>Hasil dekok daun mimba</p> 	<p>Iodips</p> 
<p>Pengujian antibakteri</p>	<p>Waterbath</p>

	
<p>Media NA (Nutrient Agar)</p> 	<p>Media NB (Nutrien Broth)</p> 

Cawan petri, gelas ukur, bunsen, micropipet, erlenmayer, j. sorong, dll.



Autoklaf



Laminar Air Flow



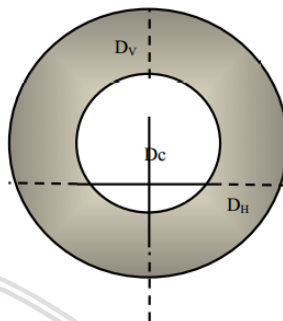
Inkubator



Oven



Lampiran 4. Cara Menghitung Diameter Zona Hambat



Keterangan :



: Zona hambat

D_v : Diameter vertikal

D_H : Diameter horisontal

D_c : Diameter cakram

Perhitungan diameter zona hambat berdasarkan Toy dkk.(2015)
diameter zona hamabat diukur dengan rumus :

$$\frac{(D_v - D_c) + (D_H - D_c)}{2}$$